

Rec'd PCT/PTO 21 DEC 2004

PCT/JP 03/11384

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

05.09.03
10/518755

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2002年 9月 5日

出願番号
Application Number: 特願2002-260503
[ST. 10/C]: [JP 2002-260503]

出願人
Applicant(s): 学校法人東京薬科大学
株式会社東京インスツルメンツ

REC'D 23 OCT 2003

WIPO

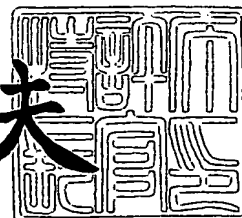
PCT

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年10月 9日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 NP02370-NT

【提出日】 平成14年 9月 5日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 21/00
B82B 1/00

【発明の名称】 発光型ナノチャンネルセンサー

【請求項の数】 4

【発明者】

【住所又は居所】 東京都立川市錦町 5 - 8 - 2 3
グレースフルリヴェレット 1 0 1

【氏名】 内田 達也

【発明者】

【住所又は居所】 宮城県仙台市青葉区川内元支倉 3 5
川内住宅 1 - 5 0 1

【氏名】 寺前 紀夫

【特許出願人】

【識別番号】 592068200

【氏名又は名称】 学校法人東京薬科大学

【特許出願人】

【識別番号】 395023060

【氏名又は名称】 株式会社東京インスツルメンツ

【代理人】

【識別番号】 100093230

【弁理士】

【氏名又は名称】 西澤 利夫

【電話番号】 03-5454-7191

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 009911

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 発光型ナノチャンネルセンサー

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 酸化物層が界面活性剤ミセルを内包しているナノチャンネル体の薄膜を有するナノチャンネルセンサーであって、ナノチャンネル内での発光型認識試薬による標的物質の認識にともなう薄膜の発光強度により検体溶液中の標的物質の存在を検出することを特徴とする発光型ナノチャンネルセンサー。

【請求項 2】 ナノチャンネル体の酸化物層が珪素酸化物を主として構成されていることを特徴とする請求項 1 の発光型ナノチャンネルセンサー。

【請求項 3】 発光型認識試薬と検体溶液とを混合し、発光型認識試薬とともにこれに認識された標的物質とをナノチャンネル内に抽出捕捉し、薄膜の発光強度により検体溶液中の標的物質の存在を検出することを特徴とする請求項 1 または 2 の発光型ナノチャンネルセンサー。

【請求項 4】 発光型認識試薬をあらかじめナノチャンネル内に含浸させ、検体溶液中の標的物質を捕捉認識にともなう薄膜の発光強度により検体溶液中の標的物質の存在を検出することを特徴とする請求項 1 または 2 の発光型ナノチャンネルセンサー。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この出願の発明は、発光型ナノチャンネルセンサーに関するものである。さらに詳しくは、この出願の発明は、生化学分析、微量成分分析等のためのセンサーとして、医学、衛生、産業、農業、さらには環境評価等の広範囲な領域において有用な、ナノメートルサイズの細孔（ナノチャンネル）構造を利用した新しい発光型ナノチャンネルセンサーに関するものである。

【0002】

【従来の技術】

従来より、ナノメートルサイズの細孔に注目して、この細孔（メソポーラス）物質を作製することが検討されてきている。これらの従来の検討では、アルコキ

シラン化合物の加水分解を界面活性剤の存在下に行うことで、界面活性剤を鑄型として細孔をもつ物質を形成している。たとえば、従来の技術としては、マイカ基板上へのメソポーラス物質の作製（文献1）や溶媒の蒸発によるメソポーラス薄膜の作製（文献2）、メソポーラス薄膜のパターニングとシランカップリング剤による機能化（文献3）等が報告されている。

【0003】

【文献1】 Hong Yang, et al., Nature, Vol.379, 22 Feb. 1996, p.703-705

【文献2】 Yun Feng Lu, et al., Nature, Vol.389, 25 Sep.1997, p.364-368

【文献3】 Hongyou Fan, et al., Nature, Vol.405, 4May.2000, p.56-60

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、たとえば以上のような検討にもかかわらず、ナノメートルサイズの細孔をもつ物質、その薄膜についての機能性材料としての技術的展開は、pHセンサーとしての利用等について示唆されているものの、ほとんど進展していないのが実情である。たとえばナノメートルスケールの細孔構造を利用した超微量分析等の実現が期待されるもののいまだに具体化されていない。

【0005】

このようなこの理由の一つとしては、従来の技術においては、細孔形成のための鑄型として界面活性剤を使用しているが、この界面活性剤は焼成によって除去されており、界面活性剤による疎水場については着目されていないことがある。分析センサー等としての機能の展開のためには、この疎水場はもっと注目されてよい。

【0006】

そこで、この出願の発明は、以上のとおりの事情に鑑みてなされたものであって、ナノメートルサイズの細孔をもつ物質について、その作製過程に用いられていた界面活性剤の存在が与える疎水場に着目し、その機能としてセンサーへの展開を可能にする新しい技術的手段を提供することを課題としている。

【0007】

【課題を解決するための手段】

この出願の発明は、上記の課題を解決するものとして、第1には、酸化物層が界面活性剤ミセルを内包しているナノチャンネル体の薄膜を有するナノチャンネルセンサーであって、ナノチャンネル内での発光型認識試薬による標的物質の認識にともなう薄膜の発光強度により検体溶液中の標的物質の存在を検出することを特徴とする発光型ナノチャンネルセンサーを提供する。

【0008】

また、この出願の発明は、第2には、ナノチャンネル体の酸化物層が珪素酸化物を主として構成されていることを特徴とする発光型ナノチャンネルセンサーを、第3には、発光型認識試薬と検体溶液とを混合し、発光型認識試薬とともにこれに認識された標的物質とをナノチャンネル内に抽出捕捉し、薄膜の発光強度により検体溶液中の標的物質の存在を検出することを特徴とする発光型ナノチャンネルセンサーを、第4には、発光型認識試薬をあらかじめナノチャンネル内に含浸させ、検体溶液中の標的物質を捕捉認識にともなう薄膜の発光強度により検体溶液中の標的物質の存在を検出することを特徴とする発光型ナノチャンネルセンサーを提供する。

【0009】

【発明の実施の形態】

この出願の発明は上記のとおりの特徴をもつものであるが、以下にその実施の形態について説明する。

【0010】

なによりも特徴的なことは、この出願の発明においては、ナノチャンネルセンサーの構造として、酸化物層が界面活性剤ミセルを内包してナノチャンネル内を疎水的な場として保持していることであり、また、この疎水的な場での発光型認識試薬による標的物質の認識にともなうナノチャンネル体薄膜の発光強度により検体溶液中の標的物質の検出が行われることである。このような特異な構造とその作用を可能とするナノチャンネル体の薄膜は、シリカ層の場合として模式的に示すと、たとえば図1の構成として考慮されるものである。

【0011】

このナノチャンネル体は、好適には、まず、酸化物形成性アルコキシド化合物

と界面活性剤含有の酸性アルコール溶液を加熱して酸化物層が界面活性剤ミセルを内包するようにして作製することができる。

【0012】

この場合の酸化物形成性アルコキシド化合物としては、ナノチャンネル構造体の酸化物層を形成するものであれば各種のものであってよい。たとえば代表的には、珪素酸化物層を形成するものとして珪素アルコキシド化合物が挙げられるが、この他にも、チタン、ジルコニウム、ハフニウム、タンタル、ニオブ、ガリウム、希土類元素等の各種のもののアルコキシドを考慮することができる。

【0013】

これらのアルコキシド化合物とともに使用される界面活性剤については各種のものが考慮されてよく、たとえば代表的なものとしてはイオン性界面活性剤としての第四級アンモニウム塩型の界面活性剤で挙げられる。また、スルホン酸型のものも挙げられる。ポリエーテル型ノニオン型界面活性剤であってもよい。ただ、なかでも好適なものの一つは、カチオン性の第四級アンモニウム塩型のものである。

【0014】

アルコキシド化合物と界面活性剤との使用割合については、その両者の種類等によって相違し、特に限定的ではないが、一般的には、アルコキシド化合物に対する界面活性剤のモル比として、0.01～0.5を目安とすることができる。

【0015】

アルコキシド化合物と界面活性剤は酸性の水溶液中で混合し、加熱する。この際の加熱温度については、還流温度までとすることができる。酸性条件とするために、塩酸や硫酸、あるいは有機酸を混合することができる。また、水溶液中には、低沸点のエタノール、プロパノール、メタノール等のアルコールを共存させるのが好ましい。

【0016】

加熱後にこの出願の発明におけるナノチャンネル体が生成されるが、この際には、加熱溶液を固体基板上に展開するか、固体基板上で前記の溶液を加熱してもよい。こうすることによって、図1に模式的に示したようなナノチャンネル体の

薄状物が得られることになる。これは薄膜と呼ぶことができる。もちろん、固体基板は各種のものであってもよい。マイカ・アルミナ等のセラミックス基板でもよいし、金属や有機高分子の基板であってもよい。

【0017】

たとえば以上のようなプロセスによって作製することのできる界面活性剤ミセルを酸化物層に内包しているナノチャンネル体薄膜によって、この出願の発明の発光型ナノチャンネルセンサーが構成される。その形態としては次の抽出型と含浸型のものとに大別される。図2はその概要を模式的に示したものである。

【0018】

抽出型では、たとえば検体水溶液中に発光型認識試薬を溶解させ、これと標的物質との錯形成させつつ疎水性相互作用でナノチャンネル内に抽出し、薄膜の蛍光強度をもとに標的物質を検出する。一方、含浸型では予め発光性の認識試薬をその水溶液からナノチャンネル内に導入しておき、その後、検体水溶液中の標的物質をチャンネル内に存在する発光性認識試薬で捕集し、膜の蛍光強度をもとに標的物質を検出する。この含浸型は、異なる認識試薬を有するナノチャンネル体薄膜を同一基板上にそれぞれ配置することによって、多種類の化学物質を一斉に検出することを可能にする。

【0019】

以上のいずれの場合においても、発光型認識試薬は各種のものであってよく、標的物質との錯形成が可能なもの、あるいは反応による結合や、物理的な捕捉結合が可能なもの等の各種のものとすることができる。ナノチャンネル内の疎水場においては、発光型認識試薬がその分子構造として各種の官能基をもつものであっても使用することが可能である。これらの発光型認識試薬については、発光機能は種々の方法によって可能としてよい。また、これらの試薬は、低分子化合物だけでなく、DNA、タンパク質、酵素等の高分子や生物由来のものであってもよい。

【0020】

前記のナノチャンネル体薄膜の発光強度の検出は、たとえば図2にも示したように、励起光照射にともなう発光の強度変化を測定してもよいし、あるいは別の

発光機構とその検出方法に基づくようにしてもよい。

【0021】

そこで以下に実施例を示し、さらに詳しく発明の実施の形態について説明する。もちろん、以下の例によって発明が限定されることはない。

【0022】

【実施例】

(ナノチャンネル体薄膜の作製例)

以下の手順に従って、

界面活性分子集合体（ミセル）を鋳型として、ナノメートルサイズの細孔（ナノチャンネル）構造を有するシリカー界面活性剤ナノチャンネル体薄膜を作製した。

<薄膜作製用溶液の調製>

・溶液の組成（モル比）を次のとおりとした。

【0023】

TEOS : EtOH : H₂O : HCl : CTAB = 1 : 8.8 : 5.0 : 0.004 : 0.075

CTAB : セチルトリメチルアンモニウムブロミド

TEOS : オルトけい酸テトラエチル

① EtOH 9.7 mL, TEOS 12.3 mL, 2.78×10^{-3} M HCl 1 mL を混合し 60℃ で 90 分還流した。

【0024】

② 還流後の溶液に EtOH 18.4 mL, CTAB 1.519 g, 5.48×10^{-2} M HCl 4 mL を加えて 30 分攪拌した。

<薄膜作製>

① 前記調製により得られた薄膜溶液 350 μ L を、洗浄、乾燥したガラス基板上へ滴下し、

② 回転塗布（spin-coat 法）（4000 rpm, 30 sec）した。

<薄膜の乾燥>

spin-coat した後、常温で 1 時間乾燥した。

<アルカリ処理> (薄膜にふくまれている HCl の中和)

・使用するアルカリ緩衝液 ($\text{NH}_4\text{Cl}-\text{NH}_3$)

0.1 M NH_4Cl と 0.1 M NH_3aq を混合 (約 pH 10)

① 乾燥させた薄膜をアルカリ緩衝液へ 20 分浸漬した。

【0025】

② アルカリ緩衝液をミリQで置換しながらすすぎ、ミリQに 20 分浸漬した。

2. 薄膜のキャラクタリゼーション

<X線回折>

前記プロセスにより得られた薄膜について、図3にはそのX線回折の結果を示した。 $2\theta = 2.450$ に明確なピークがみられ、ナノメートルオーダーの周期構造が薄膜内に形成されたことがわかる。ナノチャンネルが図1に示すようなハニカム類似構造をとっているものとする、この 2θ 値から隣接したチャンネル間の距離は4.15 nmと産出される。シリカ壁の厚みを1 nmとすると、チャンネルの孔径はおよそ3 nm程度であると推定できる。またX線回折と示差走査熱量の同時測定により、300℃まで界面活性分子がチャンネル内に存在し、ミクロな秩序構造に顕著な変化がないことを確認した。

<膜厚>

エリプソメトリー及び原子間力顕微鏡による段差測定によって得られた膜厚はほぼ同一であり、およそ390 nmであった。次に、薄膜作製用溶液をエタノールで希釈し、薄膜の制御を試みた。図4は、薄膜作製用溶液におけるTEOSのモル分率に対して、膜厚をプロットしたものである。膜厚はTEOSの含有量にほぼ比例していることが明らかとなった。

(抽出型によるアルミニウムイオンの検出)

前記プロセスに従って基板上に作製した界面活性分子集合体(ミセル)を含有するナノチャンネル体薄膜をガラス基板とともに図5の8-キノリノール-5-スルホン酸(Qs) 20 μM を含む濃度の異なるアルミニウム水溶液に20分間浸漬し、風乾後、大気中で発光スペクトルおよび強度を測定した。図6に発光スペクトルのアルミニウム濃度依存性を図7に発光強度の増幅率(アルミニウムイ

オンが存在しない場合を 1) をアルミニウムイオン濃度に対してプロットしたものを示した。発光強度はアルミニウムイオン濃度とともに増大し、 $30\ \mu\text{M}$ 付近でおよそ 7 倍程度まで増大していることがわかる。これは、図 8 に示すように試料溶液中の Qs と Al が錯体を形成しつつナノチャンネル内のミセルに捕集され、 Al 濃度に伴ってその量が増加することを示している。この結果は、 μM (およそ ppb) オーダーのアルミニウムイオンを極めて高感度かつ簡便に検出可能であることを実証している。

(抽出型によるマグネシウムイオンの検出)

上記と同様の薄膜基板を所定の Qs ($1\ \mu\text{M}$ および $10\ \mu\text{M}$) を含む濃度の異なるアルミニウム水溶液に 20 分間浸漬し、風乾後、大気中で蛍光スペクトルおよび強度を測定した。その結果を図 9 に示した。いずれの Qs 濃度の場合でも、 Mg 濃度が 3 オーダー異なる範囲で、 Mg 濃度とともに発光強度が増大していることがわかり、この出願の発明のセンサーの測定濃度範囲が極めて広く、ダイナミックレンジの広い物質検出法であることがわかる。また、 Mg 濃度に対する発光強度の増幅率は Qs 濃度が高い方が良好である。

(含浸型によるマグネシウムイオンの検出)

上記と同様の薄膜基板を用意し、 $10\ \mu\text{M}$ 、 $200\ \mu\text{M}$ 、 2mM の Qs 水溶液にそれぞれ 20 分間浸漬した。これによって、ナノチャンネル内に含浸される Qs 量を制御した。これらの基板を濃度の異なる Mg 水溶液に 20 分間浸漬し、風乾後、大気中で発光スペクトルおよび強度を測定した。その結果を図 10 に示した。 Qs 処理濃度がいずれの場合においても、増幅率は単調に増加せずに、ある Mg 濃度で極大を有することがわかる。さらにその極大を与える Mg 濃度は、 Qs 処理濃度とともに増加している。この結果は、 Qs 処理濃度を変えることで、マグネシウムに対するセンサーの最適検出濃度範囲が制御可能であることを示している。このことは、検体に応じてセンサーの最適検出濃度を設定できることを意味する。また、最適検出濃度のことなるナノチャンネルセンサーを同一基板上に集積することにより、標的物質濃度が全く未知であっても他の予備測定を必要とせずにその濃度を決定することが可能である。さらに、異なる認識試薬を有するナノチャンネル薄膜を同一基板上にそれぞれ配置することによって、多種類の化

学物質を一斉に検出することを可能にする。

【0026】

【発明の効果】

この出願の発明によって、以上詳しく説明したとおり、ナノメートルサイズの細孔をもつナノチャンネルが内包する界面活性剤の存在が与える疎水場に着目し、センサーとしての機能の新しい展開を可能にすることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

ナノチャンネル体の薄膜についてこれを模式的に示した図である。

【図2】

抽出型と含浸型のセンサーについて模式的に示した図である。

【図3】

実施例におけるナノチャンネル体薄膜についてのX線回析の結果を例示した図である。

【図4】

実施例におけるTEOS含有率と膜厚との関係を例示した図である。

【図5】

8-キノタノール-5-2スルホン酸(Qs)の分子構造を示した図である。

【図6】

発光スペクトル(薄膜)のアルミニウム濃度依存性を例示した図である。

【図7】

発光型ナノチャンネルセンサー(抽出型)のアルミニウムイオンに対する応答性を例示した図である。

【図8】

ナノチャンネル内ミセルによるアルミニウム-キノリノール錯体の抽出のメカニズムを示した図である。

【図9】

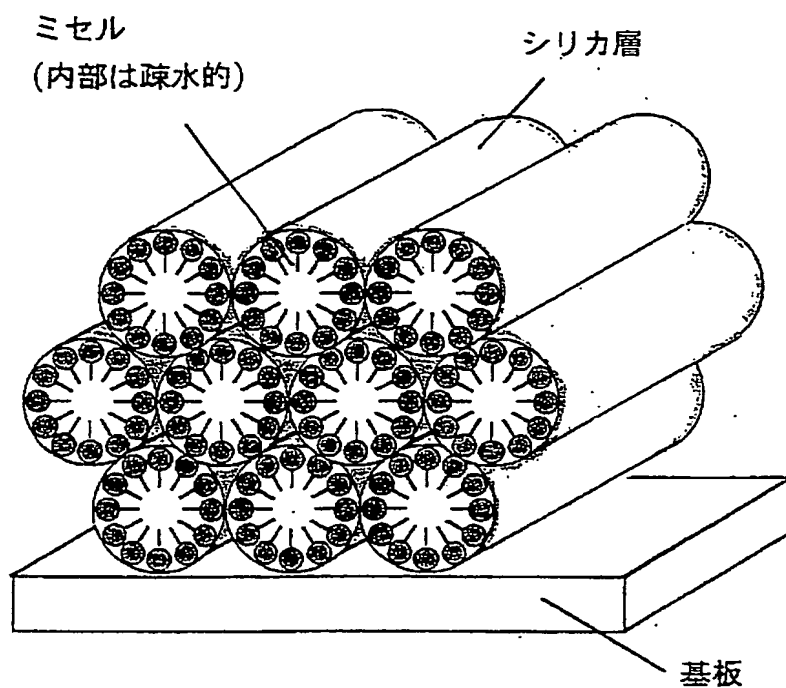
発光型ナノチャンネルセンサー(抽出型)のマグネシウムイオンに対する応答性を例示した図である。

【図 10】

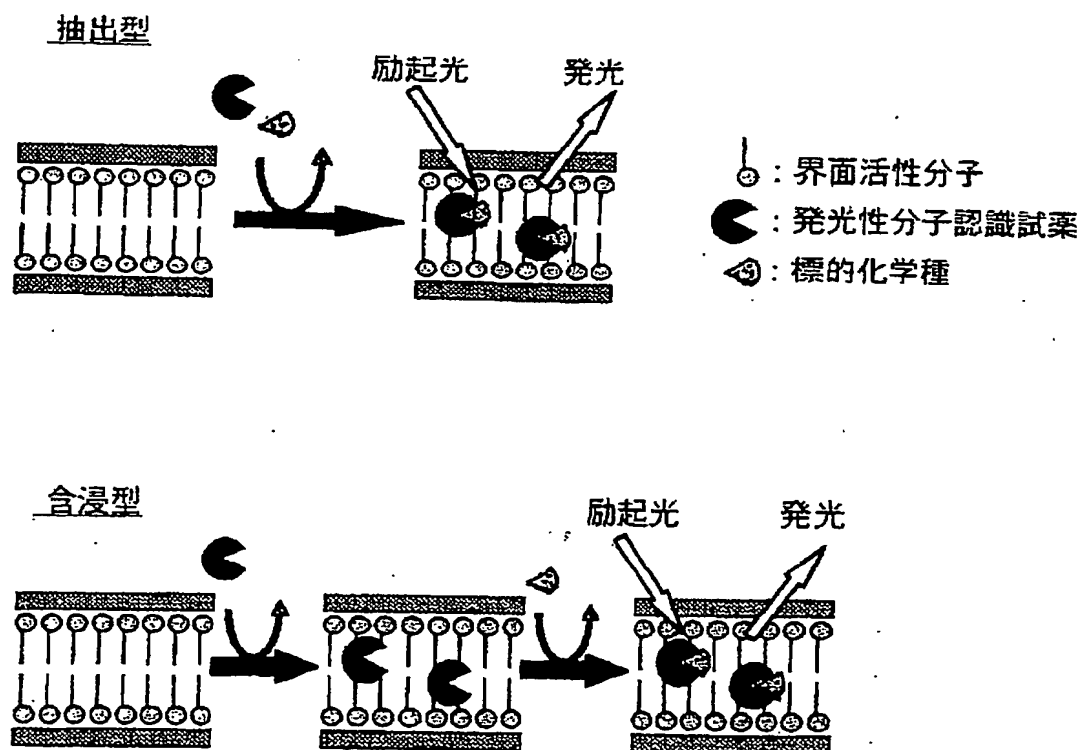
発光型ナノチャンネルセンサー（含浸型）のマグネシウムイオンに対する応答性を例示した図である。

【書類名】 図面

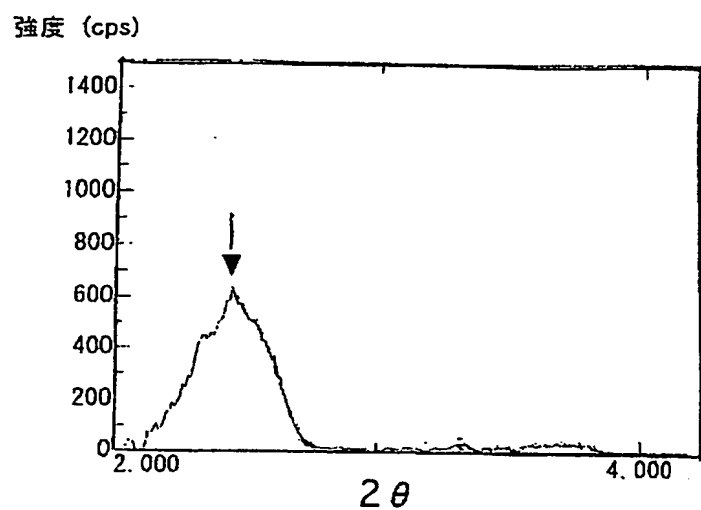
【図 1】



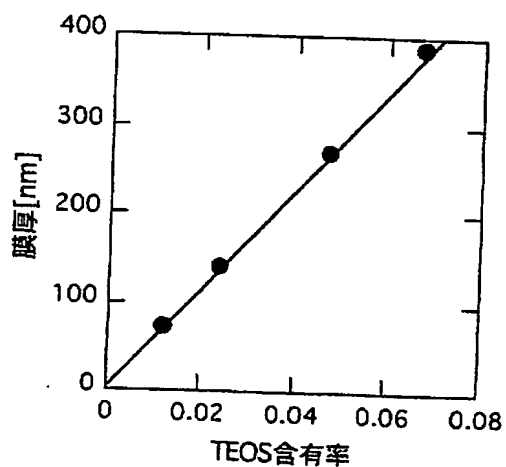
【図 2】



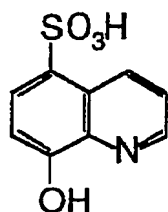
【図 3】



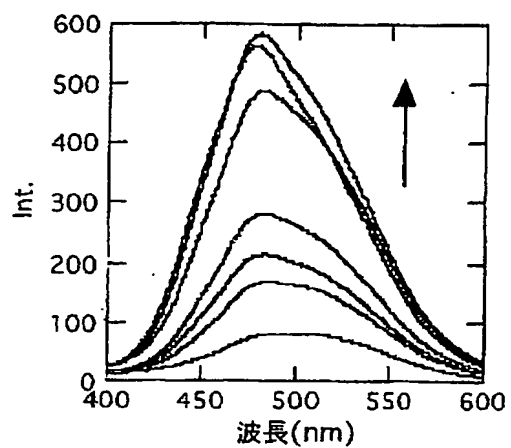
【図 4】



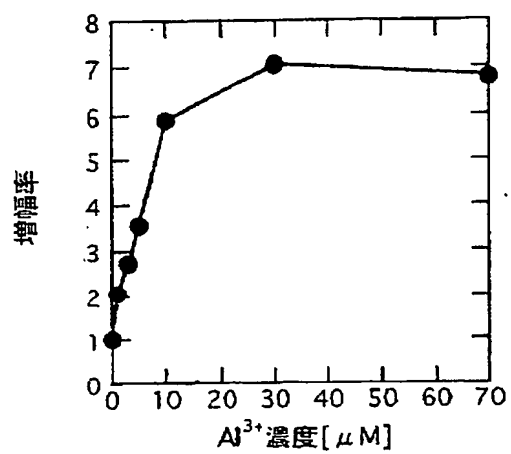
【図 5】



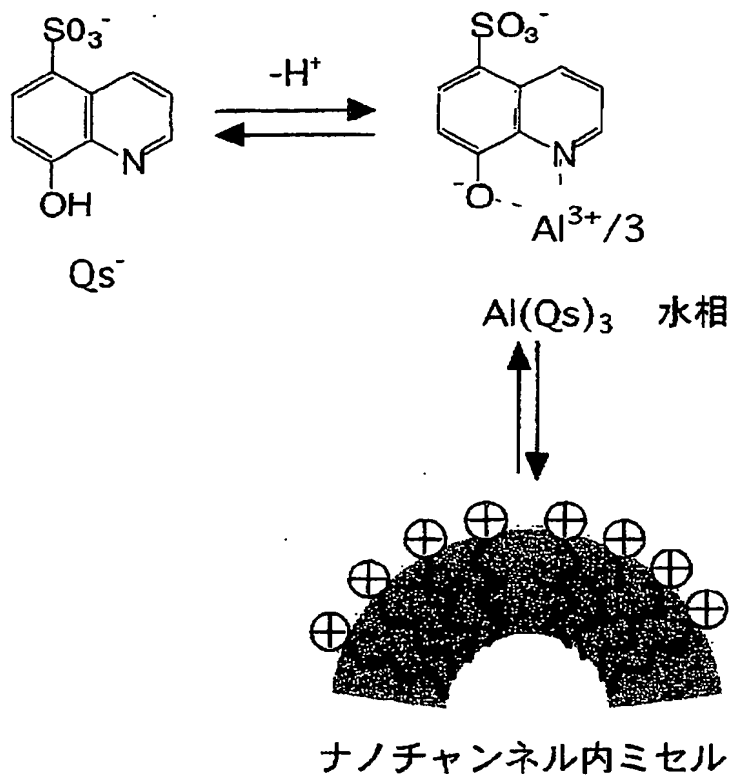
【図 6】



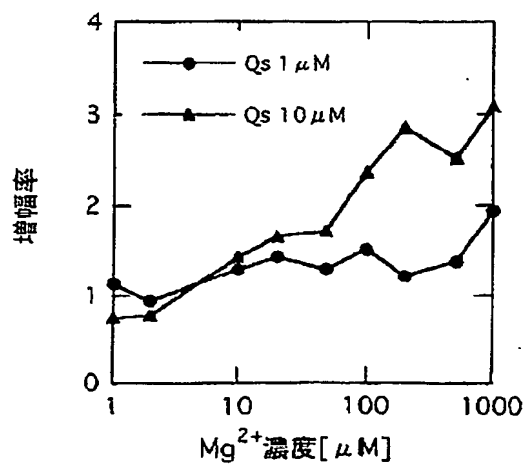
【図 7】



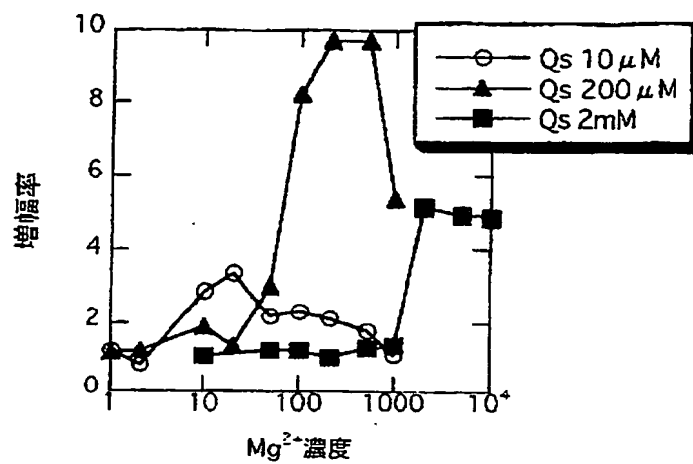
【図 8】



【図 9】



【図 10】



【書類名】 要約書

【要約】 ナノメートルサイズの細孔内の界面活性剤の存在が与える疎水場に着目し、センサー機能の新しい展開を可能にする。

【解決手段】 酸化物層が界面活性剤ミセルを内包しているナノチャンネル体薄膜において、ナノチャンネル内での発光型認識試薬による標的物質の認識にともなう薄膜の発光強度により検体溶液中の標的物質の存在を検出する。

【選択図】 図 2

特願 2002-260503

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[592068200]

1. 変更年月日

1992年 2月27日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都八王子市堀之内1432-1

氏 名

学校法人東京薬科大学

特願 2002-260503

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[395023060]

1. 変更年月日

1995年11月20日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都江戸川区西葛西6丁目18番14号

氏 名

株式会社東京インスツルメンツ